



TITLE:

MicroRNA-9-5p-CDX2 Axis: A Useful  
Prognostic Biomarker for Patients with Stage  
II/III Colorectal Cancer( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Obayashi(Nishiuchi), Aya

---

CITATION:

Obayashi(Nishiuchi), Aya. MicroRNA-9-5p-CDX2 Axis: A Useful Prognostic Biomarker for Patients with Stage II/III Colorectal Cancer. 京都大学, 2020, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2020-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k22343>

RIGHT:

京都大学	博士（医学）	氏 名	大 林（西 内） 綾
論文題目	MicroRNA-9-5p-CDX2 Axis: A Useful Prognostic Biomarker for Patients with Stage II/III Colorectal Cancer (microRNA-9-5p による CDX2 発現抑制機構は Stage II/III 大腸癌患者における有用な予後因子となりうる)		
(論文内容の要旨)			
<p>背景：大腸癌は世界的に罹患率、死亡率の高い疾患である。外科的に根治切除し得た Stage II/III 進行大腸癌患者の中にも、術後補助化学療法の効果が乏しく再発をきたす予後不良群が存在するため、それらの患者群を同定できる新たなバイオマーカーが求められている。近年 Caudal type homeobox 2(CDX2) 蛋白の発現低下が、Stage II/III 大腸癌における予後不良因子であると報告された。本研究では、本邦においても CDX2 の発現低下が Stage II/III 大腸癌の再発高リスク群の同定に寄与するか検討するとともに、遺伝子変異が稀である CDX2 の発現制御に microRNA(miR)が関与している可能性を考え、CDX2 の発現を抑制する miR を同定することを目的とした。</p> <p>方法：①2007 年 11 月 1 日～2010 年 6 月 30 日に京都大学医学部附属病院で根治切除術を施行され、最終病理学的に Stage II/III と診断された原発性大腸癌患者を対象とし、免疫染色で CDX2 発現の程度と予後との関係を調べた。②手術標本から作成した Xenograft や Spheroid を用い、フローサイトメトリーで CDX2 陽性/陰性癌細胞を単離して RNA を抽出した。オンラインの予測データを用いて候補 miR を挙げておき、各々の癌細胞における候補 miR の発現量を定量的 PCR で比較した。CDX2 陽性群で発現低下、CDX2 陰性群で発現亢進している miR に着目し、実際に CDX2 の発現を抑制するかを調べた。③同定した miR を導入した大腸癌細胞株を用い、細胞増殖、細胞周期、化学療法の効果について実験を行った。④The Cancer Genome Atlas Program (TCGA)のデータベースを用い、同定した miR の発現の程度と予後との関係について解析した。</p> <p>結果：①CDX2 陰性は 174 例中 11 例(6.3%)あり、既報と同程度であった。CDX2 陰性群では、relapse-free survival(RFS)、overall survival(OS)ともに有意に不良であった(ともに <math>p &lt; 0.001</math>)。RFS における単変量解析では、CDX2 陰性、低分化腺癌/粘液癌が有意な関連を認め、多変量解析では CDX2 のみが独立した予後因子であった(<math>p = 0.014</math>)。②3 例の定量的 PCR の結果、8 つの候補 miR のうち、miR-9-5p のみが CDX2 陽性群に比し CDX2 陰性群で有意な発現上昇を認めた。CDX2 の 3' 非翻訳領域に存在する miR-9-5p の標的配列を組み込んだ WT luciferase 発現ベクターを作成し、miR-9-5p を同時に導入したところ、WT ベクターの luciferase activity はコントロールに比して有意に抑制されたが、標的配列に変異を組み込むと luciferase activity は抑制されなかった。また、CDX2 を発現している大腸癌細胞株 SW480 に miR-9-5p を導入すると CDX2 蛋白の発現低下が認められた。③miR-9-5p の前駆体の一つである miR-9-1 を導入した大腸癌細胞株 DLD-1 では CDX2 蛋白の発現が低下し、細胞周期、細胞増殖が共に亢進した。またこの細胞株では、臨床で使用される抗癌剤であるオキサリプラチンやイリノテカンが、コントロールに比して有意に</p>			

<p>効果的であった。④<b>TCGA</b> のデータベースを用いた予後解析では、<b>Stage II/III</b>、<b>Stage I-IV</b> 大腸癌患者いずれにおいても <b>miR-9-5p</b> 高発現群は、低発現群に比して有意に <b>OS</b> が不良であった(順に <b>p = 0.019</b>、<b>p = 0.010</b>)。</p> <p>結論：<b>miR-9-5p</b> による <b>CDX2</b> の転写後発現抑制機構は、<b>Stage II/III</b> 大腸癌患者における有用な予後因子であり、予後不良と考えられる患者群を対象として、新たな治療戦略を提案できる可能性がある。</p>			
<p>（論文審査の結果の要旨）</p> <p>近年、大腸癌における <b>CDX2</b> の発現低下が患者の予後不良と関係することが報告されている。本申請者らは、本邦におけるバイオマーカーとしての <b>CDX2</b> の有用性を臨床データから検証するとともに、<b>CDX2</b> 発現の制御機構を細胞株を用いて探索した。</p> <p>根治切除後の原発性大腸癌組織を用いた免疫染色で、<b>CDX2</b> 陰性群は陽性群に比べ、全生存期間・無再発生存期間が短縮していること(ともに <b>p &lt; 0.001</b>)、無再発生存期間についての多変量解析で <b>CDX2</b> が独立した予後因子であること(ハザード比 4.33、95%CI 1.37-12.3, <b>p = 0.014</b>)を見出した。また大腸癌由来 <b>PDX(patient derived xenograft)</b>やスフェロイドを用いた解析から、<b>microRNA-9-5p</b> が <b>CDX2</b> 発現を制御する可能性を考え、大腸癌細胞株を用いて <b>microRNA-9-5p</b> が <b>CDX2</b> の非翻訳領域に結合し <b>CDX2</b> 発現を転写後抑制することを明らかにした。更に <b>microRNA-9-5p</b> の前駆体の一つである <b>microRNA-9-1</b> を導入した大腸癌細胞株では、<b>CDX2</b> 発現が低下して細胞周期・細胞増殖が活発化し、抗癌剤の薬剤感受性が上昇することを見出した。また <b>TCGA</b> のデータベースを用いた検討では、<b>microRNA-9-5p</b> 高値群は低値群と比べ <b>Stage II/III</b>、<b>Stage I-IV</b> 大腸癌患者ともに全生存期間が短縮すること(順に <b>p = 0.019</b>、<b>p = 0.010</b>)を見出した。</p> <p>これらの結果から、<b>microRNA-9-5p-CDX2</b> 系は <b>Stage II/III</b> 大腸癌患者における予後予測因子になり得ると考えられた。</p>			
<p>以上の研究は <b>microRNA-9-5p</b> による <b>CDX2</b> 発現抑制機構の解明に貢献し、新たな大腸癌治療に寄与するところが多い。</p>			
<p>したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。</p>			
<p>なお、本学位授与申請者は、令和2年2月14日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>			
<p>要旨公開可能日：                      年              月              日 以降</p>			